

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of :

Hess-Stumpp et al.

Serial No. : 09/961,403

Filed : September 25, 2001

For : METHOD FOR IN VITRO DIAGNOSIS OF ENDOMETRIOSIS

SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENT(S)

Assistant Commissioner for Patents
Washington, D. C. 20231

Sir:

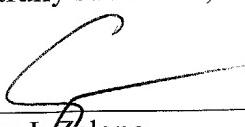
Submitted herewith is a certified copy of each of the below-identified document(s),
benefit of priority of each of which is claimed under U.S.C. § 119:

<u>COUNTRY</u>	<u>APPLICATION NO.</u>	<u>FILING DATE</u>
Germany	100 48 633.9	September 25, 2000

Acknowledgment of the receipt of the above document(s) is requested.

No fee is believed to be due in association with this filing, however, the Commissioner is
hereby authorized to charge fees under 37 CFR 1.16 and 1.17 which may be required to facilitate
this filing, or credit any overpayment to Deposit Account #13-3402.

Respectfully submitted,



Anthony J. Zelano
Registration No. 27,969
Attorney for Applicants

MILLEN, WHITE, ZELANO
& BRANIGAN, P.C.
Arlington Courthouse Plaza 1
2200 Clarendon Blvd. Suite 1400
Arlington, Virginia 22201
Telephone: (703) 243-6333
Facsimile: (703) 243-6410

Attorney Docket No.: SCH-1789

Date: January 4, 2002

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 100 48 633.9

Anmeldetag: 25. September 2000

Anmelder/Inhaber: Schering AG, Berlin/DE

Bezeichnung: Methode zur in vitro Diagnostik von Endometriose

IPC: C 07 H, C 12 Q, G 01 N

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 27. September 2001
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Reit".

A small, faint circular stamp or logo, possibly a seal of the German Patent and Trademark Office.

5 Methode zur in vitro Diagnostik von Endometriose

Die Erfindung betrifft eine Methode zur in vitro Diagnostik von Endometriose.

Endometriose ist eine der häufigsten gynäkologischen Erkrankungen, von der schätzungsweise 5-10% aller Frauen im reproduktionsfähigen Alter betroffen sind

10 (Sillem, M. 1998; Programmed® 23, Suppl. 1, 1-28). Sie ist gekennzeichnet durch das Vorkommen von Endometriumsgewebe außerhalb der physiologischen Schleimhautauskleidung des Uterus. Neben Schmerzen und zahlreichen anderen Symptomen sind viele Endometriosepatientinnen steril, und ein großer Teil der IVF-Patientinnen (IVF – in vitro Fertilisation) leidet an Endometriose (Adamson, G.D. 1997; Sem. Reprod. Biol. 15, 263-271). In jüngster Zeit mehren sich Publikationen, die für eine genetische Prädisposition bei der Entwicklung einer Endometriose sprechen (Kennedy, S. 1997; Sem. Reprod. Biol. 15, 309-318). So wurde der Verlust von Tumorsuppressormolekülen sowie familiäre Häufungen bei Endometriose-Patientinnen beschrieben.

20 Zur Zeit wird die Endometriose mit Hilfe der Laparoskopie diagnostiziert. Dies ist eine invasive Methode, die häufig zu Komplikationen führt (Chapron C. et al. 1998; Hum. Reprod. 13, 867-872; Jansen F. W. et al, 1997; Br. J. Obstet. Gynecol. 104, 595-600). Sie wird unter Narkose durchgeführt und setzt einen voll eingerichteten Operationssaal voraus.

25 Daher besteht ein Bedarf an neuen Diagnostikmethoden. Wünschenswert wäre eine Methode, die für die Patientinnen weniger belastend wäre und die vom behandelnden Arzt durchgeführt werden könnte.

Dieses Problem wird erfindungsgemäß gelöst durch die Identifizierung von bei der Endometriose differentiell regulierten Genen und die Bereitstellung einer Methode 30 zur Detektion ihrer Genprodukte.

Die Erfindung betrifft eine Methode zur in vitro Diagnose von Endometriose wobei die Menge an Genprodukt von mindestens einem Gen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1,

5 Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV
alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde
Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon in einer
Patientinnenprobe bestimmt wird und mit der Menge an diesem Genprodukt in einer
Kontrollprobe verglichen wird, wobei eine geringere Menge an diesem Genprodukt
10 auf das Vorliegen einer Endometriose hinweist.

Die Gruppe der Gene wird in Abbildung 1 näher beschrieben. Die Expressionsstärke,
d.h. die Menge des Genproduktes von mindestens einem der in Abbildung 1
genannten Gene in einer Patientinnenprobe wird bestimmt und mit der aus einer
Kontrollprobe (Frau ohne Endometriose) verglichen. Die zu vergleichenden Proben
15 müssen beide aus der sekretorischen Phase, also aus dem Bereich Tag 15-28 nach
der letzten Menstruation stammen. Eine verminderte Expressionsstärke von
mindestens einem der o.g. Gene in der Patientinnenprobe deutet auf das Vorliegen
einer Endometriose hin.

Eine Patientinnenprobe kann eine Probe vom Endometriumgewebe,
20 Peritonealflüssigkeit, Blut, vaginales Sekret oder Urin der Patientin sein.

Ein Genprodukt ist entweder mRNA, die daraus abgeleitete cDNA, ein Polypeptid
oder Teile eines Polypeptids. Die Aminosäuresequenzen der Polypeptide sind in
Abbildung 2 dargestellt.

Die erfindungsgemäße Methode kann zur erstmaligen Diagnose von Endometriose
25 eingesetzt werden. In diesem Fall wird die Menge des Genproduktes in der
Patientinnenprobe mit einer Kontrollprobe von nicht erkrankten Frauen verglichen.
Die erfindungsgemäße Methode kann auch zur Beurteilung des Verlaufs der
Krankheit verwendet werden. So kann z.B. der Erfolg einer Therapie bestimmt
werden. In diesem Fall wird die Patientinnenprobe mit einer älteren Probe derselben
30 Patientin verglichen.

Das Genprodukt Polypeptid oder ein Teilstück eines Polypeptids wird durch
Immunassays detektiert. Dazu werden spezifische Antikörper gegen eines oder
mehrere Polypeptide ausgewählt aus der in Abbildung 2 beschriebenen Gruppe,
hergestellt. Die Antikörper können monoklonal oder polyklonal sein. Sie können
35 gegen jeweils das gesamte Polypeptid oder gegen Fragmente davon gerichtet sein.
Die Gewinnung eines solchen Antikörpers erfolgt nach Standardmethoden durch

5 Immunisierung von Versuchstieren. Die Antikörper werden dann z.B. in einem ELISA (enzyme-linked-immunosorbent assay), in einem RIA (radioimmunoassay) oder in der Immunhistochemie zur Bestimmung der Menge des Genproduktes verwendet (Aoki, K. et al. 1996; Forensic Sci. Int. 80, 163-173).

Die Erfindung betrifft ferner die Verwendung eines erfindungsgemäßen Antikörper-
10 Chips zur Diagnose von Endometriose. Antikörper-Chips sind miniaturisierte Träger, meist aus Glas oder Silizium, auf deren Oberfläche Antikörper bekannter Spezifität in einem geordneten Raster in hoher Dichte immobilisiert werden. Die Detektion der Protein/Protein Interaktionen kann durch Massenspektrometrie, Fluoreszenz oder surface plasmon resonance erfolgen. Es können Antikörper, welche die aus der in
15 Abbildung 2 beschriebenen Gruppe ausgewählten Proteine spezifisch binden, auf dem Antikörper-Chip immobilisiert sein. Methoden zur Herstellung und Verwendung von Antikörper-Chips sind in Kreider BL, Med Res Rev 2000,20:212-215 beschrieben.

Die Genprodukte mRNA bzw. die daraus abgeleitete cDNA können durch
20 Hybridisierung mit Oligonukleotiden, z.B. durch einen Northern blot bestimmt werden. Diese Oligonukleotide haben Sequenzen, die komplementär zu Teilsequenzen des zu detektierenden Genprodukts sind, und können z.B. mit einer chromogenen, radioaktiven oder fluoreszierenden Gruppe markiert sein. Vor der Hybridisierung kann die cDNA mit Hilfe der PCR amplifiziert werden (Sambrook, J. et al. 1989; Cold
25 Spring Harbor Laboratory Press).

 Die Genprodukte mRNA bzw. die daraus abgeleitete cDNA können auch durch quantitative PCR (polymerase chain reaction) bestimmt werden.

Die mRNA kann auch durch *in situ* Hybridisierung mit antisense-RNA bestimmt werden. Dabei kann die antisense-RNA mit Dioxigenin, ^{32}P oder ^{33}P markiert sein.
30 Antisense Nukleinsäure ist eine DNA und/oder RNA , die komplementär zu einer mRNA ist. Sie kann die gesamte komplementäre Sequenz oder Teilsequenzen umfassen. Diese Methode ist dem Fachmann bekannt (Barlati, S. et al. 1999; Histol. Histopathol. 14, 1231-1240).

Die Hybridisierung kann auch mit Hilfe eines DNA-Chips erfolgen. Die Erfindung betrifft daher weiterhin einen DNA – Chip, auf dem mindestens ein Oligonukleotid immobilisiert ist, das der vollständigen cDNA-Sequenz oder einer Teilsequenz bzw.

5 komplementären Sequenz eines Genes ausgewählt aus der Gruppe, die in Abbildung 1 beschrieben ist, entspricht. Die Erfindung betrifft somit ferner die Verwendung eines erfindungsgemäßen DNA-Chips zur Diagnose von Endometriose.

DNA-Chips, auch als DNA-Mikroarrays bekannt, sind miniaturisierte Träger, meist aus Glas oder Silizium, auf deren Oberfläche DNA-Moleküle bekannter Sequenz in 10 einem geordneten Raster in hoher Dichte immobilisiert werden. Die Oberflächengebundenen DNA-Moleküle werden mit komplementären, eventuell markierten Nukleinsäuren hybridisiert. Die Markierung kann ein Fluoreszenzfarbstoff sein.

Bei Oligonukleotid-Chips stellen die Oligonukleotide, die auf einem erfindungsgemäßen DNA-Chip gebunden sein können, Teilsequenzen der 15 Genprodukte (mRNA bzw. daraus abgeleitete cDNA) in der Sense- oder Antisense-

• Richtung dar. Es können ein oder mehrere Oligonukleotide pro Gen auf dem DNA-Chip gebunden sein. Bevorzugt sind 25 Nukleotid-lange Oligonukleotide, die aus dem nicht kodierenden Strang abgeleitet sind. Diese werden bevorzugt aus dem jeweiligen 3'untranslatierten Ende des Gens ausgewählt. Zur Detektion können 20 Oligonukleotide von einem Gen, mehreren Genen oder allen Genen ausgewählt aus der in Abbildung 1 beschriebenen Gruppe eingesetzt werden. Methoden zur Herstellung und Verwendung von DNA-Chips sind z.B. in den US-Patenten Nr. 5,578,832; 5,556,752 und 5,510,270 beschrieben.

Bei cDNA Chips sind die vollständigen Genprodukte (cDNAs) oder Subfragmente 25 (200-500bp lang) auf dem Chip gebunden. Die Methode wird z. B. in Eckmann, L. et al., J Biol Chem 2000, 275: 14084-14094 beschrieben.

Das Genprodukt mRNA kann auch durch chromogene Assays bestimmt werden.

5 Beschreibung der Abbildungen

Abb. 1 zeigt die Liste der Gene, die in der sekretorischen Phase bei Vorliegen einer Endometriose herunterreguliert sein können und damit für eine Diagnostik der Endometriose verwendet werden können. In Spalte 1 sind die Namen und die Datenbank-Nummer (Accession Numbers) der Gene aufgelistet, die bei der Analyse als differentiell reguliert gefunden wurden. In Spalte 2 findet sich der Vergleich von Proben aus der sekretorischen Phase (sekr. Phase), jeweils *Endometriose* versus *Normal* (keine Endometriose); *down* bezeichnet den Zustand der Herunterregulation. Die erste Zahl in Klammern gibt an, wie oft das Gen als heraufreguliert und die zweite Zahl gibt an, wie oft das Gen als herunterreguliert gefunden wurde. Für diese Analyse wurden 20 Einzelvergleiche durchgeführt. In Spalte 3 findet sich der Vergleich von Proben aus der proliferativen Phase (prol. Phase). Für diese Analyse wurden 30 Einzelvergleiche durchgeführt. Die Bezeichnung *down* beschreibt den gleichen Zustand wie in Spalte 1, *nc* bedeutet *no correlation* (keine Korrelation), d.h. man findet dieses Gen sowohl herunter- als auch heraufreguliert. Die Bedeutung der Zahlen ist analog zu Spalte 2. In der vierten Spalte findet sich der Vergleich von Proben aus der sekretorischen Phase mit Proben aus der proliferativen Phase. Hier wurde Endometrium von Frauen ohne Endometriose miteinander verglichen. Für diese Analyse wurden 25 Einzelvergleiche durchgeführt. Die Bezeichnung *up* beschreibt den Zustand der Heraufregulation. Die Bedeutung der Zahlen ist analog zu Spalte 2.

Abbildung 2 zeigt eine Liste der Polypeptide, die von den in Abbildung 1 dargestellten Genen kodiert werden und bei Vorliegen einer Endometriose vermindert exprimiert werden.

30 Beispiele

Die in den Beispielen verwendeten molekularbiologischen Methoden wie z.B. Isolierung von RNA, Sequenzierung von DNA, RNase Protection, Northern Blot Analyse, Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurden nach Standardprotokollen, wie in bekannten Lehrbüchern wie z.B. in Molecular Cloning, A Laboratory Manual

5 (Sambrook, J. et al. 1989; Cold Spring Harbor Laboratory Press) beschrieben, durchgeführt. Methoden für Subtraktionsanalysen der Genexpression sind z.B. in Liang, P. und Pardee, A. B. 1995; Curr. Opin. Immunol. 7, 274-280 beschrieben.

Beispiel 1: Identifizierung von Endometriose-assoziierten Genen

10 Gene, die mit dem Krankheitsbild der Endometriose assoziiert sind, wurden durch Vergleich von Endometriumproben folgender Patientinnengruppen identifiziert:

1. Proliferative Phase: Tage 4-14 nach der letzten Menstruation. Diese Gruppe setzte sich aus Patientinnen zusammen, bei denen aufgrund von Leiomyomen eine Hysteroskopie oder Hysterektomie durchgeführt wurde.

15 2. Sekretorische Phase: Tage 15-28 nach der letzten Menstruation. Diese Gruppe setzte sich aus Patientinnen zusammen, wie unter 1. beschrieben.

3. Proliferative Phase plus Endometriose: Tage 4-14 nach der letzten Menstruation. Die Patientinnen dieser Gruppe litten an Endometriose.

20 4. Sekretorische Phase plus Endometriose: Tage 15-28 nach der letzten Menstruation. Die Patientinnen dieser Gruppe litten an Endometriose.

Endometrium von Frauen mit Endometriose wurde mittels einer Strichcurettage gewonnen. Das Endometrium der Vergleichsgruppe wurde von Frauen im Rahmen einer Hysteroskopie oder einer Hysterektomie, die wegen eines Leiomyoms

25 vorgenommen wurde, gewonnen. Das Gewebe wurde nach der Entnahme in flüssigem Stickstoff tiefgefroren. Anschließend wurde Gesamt-RNA aus den Proben extrahiert. Diese RNA wurde amplifiziert, durch einen Fluoreszenzmarker markiert, und mit einem DNA-Chip (Human SL array der Firma Affymetrix, enthaltend Oligonukleotide für ca. 7000 humane Gene) hybridisiert. Nach dem Hybridisierungsverfahren wurde der DNA-Chip in einem Scanner analysiert. Die

30 Hybridisierungsmuster aller Gensequenzen, die sich auf dem Chip befinden, wurden zwischen allen Proben verglichen. Insgesamt wurden 20 Einzelvergleiche mit Proben aus der sekretorischen Phase und 30 Einzelvergleiche mit Proben aus der proliferativen Phase durchgeführt bei denen jeweils eine Probe von einer Frau mit Endometriose stammte und eine Probe von einer Frau, die nicht an Endometriose litt.

5 Als differentiell reguliert betrachtet wurden alle diejenigen Gene, die in mindestens der Hälfte der Fälle (10 Vergleiche) um mindestens den Faktor 1.5 gegenüber der Kontrollgruppe (Proben von Frauen ohne Endometriose) herauf- oder herunterreguliert waren. Außerdem wurden 25 Einzelvergleiche von Proben aus der sekretorischen Phase mit Proben aus der proliferativen Phase durchgeführt. Hier
10 wurde Endometrium von Frauen ohne Endometriose verglichen.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 1 dargestellt. Die aufgelisteten Gene können als Differenzierungsmarker betrachtet werden. Ausgehend von der Betrachtung, daß die proliferative Phase, dem Namen entsprechend von proliferativen Prozessen dominiert wird, wird die sekretorische Phase eher als Differenzierungsphase
15 angesehen. Vor diesem Hintergrund sollten Gene, die für die Differenzierung von Bedeutung sind, während dieser Phase heraufreguliert werden (vergleiche mit Abbildung 1, Spalte 4) und während der proliferativen Phase herunterreguliert oder gleichbleibend reguliert sein (vergleiche mit Abbildung 1, Spalte 3). Die Gene, die in Spalte 1 aufgelistet sind, erfüllen diese Kriterien und werden daher als
20 Differenzierungsmarker bezeichnet. Dass diese Gene bei Frauen mit Endometriose herunterreguliert sind (Spalte 2), deutet auf eine gestörte Differenzierung in der sekretorischen Phase hin.

Beispiel 2: Diagnostik von Endometriose

25 1. Probengewinnung

Für die DNA-Chip-Analyse wird Endometriumgewebe aus Patientinnen gewonnen und Gesamt-RNA daraus isoliert. Die RNA wird dann amplifiziert und an einen Fluoreszenzmarker gekoppelt. Für den Immuntest kann Peritonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-Sekret, Urin oder Endometriumgewebe von der Patientin gewonnen werden.

30 2. Detektion der Genprodukte

2a. mit Hilfe eines DNA-Chips

Zuerst werden die geeigneten DNA-Sequenzen aus den Genen, die aus der in Abbildung 1 beschriebenen Gruppe ausgewählt werden, bestimmt. Geeignet sind Sequenzen, die mit den ausgewählten Gentranskripten hybridisieren können. Die

- 5 Oligonukleotide werden dann durch einen chemischen Prozess, der auf photolithographischen Verfahren basiert, auf dem Chip hergestellt. Dazu werden photolithographische Masken verwendet, die durch geeignete Computer-Algorithmen erzeugt wurden.

Die markierte RNA wird mit dem Chip in einem Hybridisierungsofen inkubiert.

- 10 Anschliessend wird der Chip in einem Scanner analysiert, der die Hybridisierungsprofile bestimmt. Dadurch kann festgestellt werden, ob in der sekretorischen Phase eines oder mehrere der Gene der in Abbildung 1 aufgelisteten Gene runterreguliert ist, was auf eine Endometriose hinweist.

2b. durch Immuntest

- 15 Für die Durchführung eines Immuntestes benötigt man spezifische Antikörper, die an die in Abbildung 2 beschriebenen Polypeptide binden. Die Antikörper können mono- oder polyklonale Antikörper sein, die gegen die aufgereinigten Proteine, Peptide, ausgewählt aus den kodierten Proteinen, oder rekombinant hergestellte Fragmente oder Gesamtprotein gerichtet sind.
- 20 Erfolgt die Analyse mittels Immunohistochemie verwendet man Endometrium, das der zu analysierenden Patientin entnommen wurde. Nach geeigneter Fixierung des Gewebes, z.B. mittels Formaldehyd und anschließender Einbettung in Paraffin kann das Gewebe für die immunhistochemische Analyse verwendet werden. Dazu werden von dem fixierten und eingebetteten Gewebe mit einem Mikrotom Schnitte
- 25 geeigneter Dicke, z.B. 4 µm, angefertigt. Der oder die spezifischen Antikörper werden dann mit den weiter vorbereiteten Gewebeschnitten (z.B. Deparaffinierung, Blocken) eine Zeitlang unter geeigneten Temperaturbedingungen, z.B. 1h bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Waschschritten mit einer geeigneten Lösung, z.B. PBS, werden die Schnitte in einem 2. Schritt mit einem geeigneten zweiten Antikörper
- 30 inkubiert, der für die nachfolgenden Reaktionen, z.B. biotiniliert ist. Der 2. Antikörper bindet an die für die jeweilige Spezies konstante Region des 1. Antikörpers. Nach geeigneter Inkubationszeit und Waschschritten wird nun in einem dritten Schritt die Gewebeprobe z.B. mit Horse-Redish Peroxidase, gekoppelt an Streptavidin, inkubiert. Nach geeigneter Inkubationszeit und Waschschritten wird nun in einem
- 35 letzten Schritt durch Zugabe eines geeigneten Farbstoffs, z.B. DAB, von der Peroxidase eine Enzymreaktion katalysiert, die zu einer Farbreaktion dort führt, wo

imunosorbent assay) wird der polymere Trägermatrix, z.B. man den oder die fixierten Peritonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-Waschvorgängen wird in einem einer anderen Stelle des zu Antikörper trägt zusätzlich noch ein Enzym. Dieses Enzym katalysiert nun eines farblosen Substrats in ein fluoreszierendes Substrat in ein. Die Menge des farbigen oder messen werden. Da die Menge des Antigens proportional ist, s oder Fluoreszenzproduktes für Extrakt vorhandenen Polypeptide

- 5 der 1. Antikörper spezifisch gebunden hat. Nach Abstoppen der Enzymreaktion und Waschschriften kann der Gewebeabschnitt nun getrocknet, fixiert und mit einem Deckgläschen versehen, unter dem Mikroskop analysiert werden. Um zu entscheiden, ob in der Gewebeprobe ein quantitativer oder auch qualitativer Unterschied besteht, muß eine entsprechende Kontrolle einer Probe von einer Frau ohne Endometriose als Vergleich herangezogen werden.
- Erfolgt die Analyse mittels Westernblot werden die gewonnenen Gewebeproben oder Extrakte aus der Peritonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-Sekret oder Urin mittels einer Polyacrylamid-Gelelektrophorese aufgetrennt. Nach der Auftrennung werden die in dem Gel aufgetrennten Polypeptide durch Anlegen eines elektrischen Stroms auf 10 eine geeignete Trägermembran, z.B. Nitrozellulose, überführt. Die auf der Trägermembran fixierten Proteine werden nun in einem 1. Schritt mit dem oder den spezifischen Antikörpern inkubiert. Nach geeigneten Waschvorgängen, z.B. mit TBS/TBST, wird die Trägermembran in einem 2. Schritt mit einem 2. Antikörper inkubiert, der an die für die jeweilige Spezies konstante Region des 1. Antikörpers 15 bindet. Der 2. Antikörper kann eine radioaktive Markierung tragen oder ein gekoppeltes Enzym, z.B. alkalische Phosphatase, die in einer nachfolgenden Farbreaktion ein farbloses Substrat in ein farbiges Substrat umwandelt. Da die Menge des an dem Antigen gebundenen des 2. Antikörpers derjenigen des Antigens proportional ist, kann daher die Menge des gemessenen Farbstoffs für eine 20 quantitative Analyse des oder der in dem Extrakt vorhandenen Polypeptide genutzt werden.
- Erfolgt die Analyse mittels eines Festphasenimmunoassays wird der oder die spezifischen Antikörper an eine polymere Trägermatrix, z.B. Polyvinylchlorid, gebunden. Anschließend inkubiert man den oder die fixierten Antikörper mit dem 25 Extrakt, der aus z.B. aus der Peritonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-Sekret oder Urin gewonnen wurde. Nach geeigneten Waschvorgängen wird in einem 2. Schritt ein 2. Antikörper hinzugegeben, der an einer anderen Stelle des zu detektierenden Antigens spezifisch bindet. Der 2. Antikörper trägt z.B. eine radioaktive oder Fluoreszenzmarkierung und kann daher in einem 3. Schritt hochempfindlich 30 nachgewiesen werden. Die an dem Antigen gebundene Menge des 2. Antikörpers ist derjenigen des Antigens proportional und kann daher für eine quantitative Analyse des oder der in dem Extrakt vorhandenen Proteine genutzt werden.

5 Ansprüche

1. Methode zur in vitro Diagnose von Endometriose, dadurch gekennzeichnet, daß die Menge an Genprodukt von mindestens einem Gen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon in einer Patientinnenprobe bestimmt wird und mit der Menge an diesem Genprodukt in einer Kontrollprobe verglichen wird, wobei eine geringere Menge an diesem Genprodukt auf das Vorliegen einer Endometriose hinweist.

2. Verwendung von Antikörpern gegen ein oder mehrere Proteine kodiert von Genen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor

receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon oder gegen Teile des Polypeptids oder der Proteine zur Diagnose von Endometriose.

3. DNA – Chip, dadurch gekennzeichnet, daß auf dem Chip mindestens ein Oligonukleotid, das eine Teilsequenz einer DNA ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon oder deren komplementären Sequenz umfaßt, gebunden ist.

4. Verwendung eines DNA-Chips nach Anspruch 3 zur Diagnose von Endometriose.

5 Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft eine Methode zur Diagnose von Endometriose wobei die Menge an Genprodukt von mindestens einem Gen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, 10 Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon in einer Patientinnenprobe bestimmt wird.

Datenbank-Nr., Name	Vergleich Endometriose versus Normal (sekr. Phase)	Vergleich Endometriose versus Normal (prol. Phase)	Vergleich sekr. versus pro. Phase (Endometrium)
X02761, fibronectin (FN precursor)	down (0 up - 16 down)	down (4 up -12 down)	up (18 up - 1 down)
S37730, insulin-like growth factor binding protein-2	down (1-15)	nc (13-13)	up (17-2)
U40271, Human transmembrane receptor precursor (PTK7)	down (0-14)	nc (6-2)	up (9-1)
M21574, platelet-derived growth factor receptor alpha (PDGFRA)	down (0-13)	nc (8-10)	up (17-0)
L22548, collagen type XVIII alpha 1 (COL18A1)	down (0-13)	down (0-8)	up (17-0)
M80482, subtilisin-like protein (PACE4)	down (1-13)	down (4-13)	up (22-2)
Z26653, laminin M chain (merosin)	down (1-13)	nc (9-10)	up (17-1)
M36860, U77846, Elastin	down (0-12)	nc (0-0)	up (25-0)
X05610, type IV collagen alpha -2 chain	down (0-12)	nc (3-3)	up (11-0)
X67325, p27 interferon alpha-inducible gene	down (1-12)	nc (9-10)	up (10-2)

Datenbank-Nr., Name	Vergleich Endometriose versus Normal (sekr. Phase)	Vergleich Endometriose versus Normal (prol. Phase)	Vergleich sekr. versus prol. Phase (Endometrium)
D42073, reticulocalbin	down (0-11)	nc (8-5)	up (11-2)
U07919, aldehyde dehydrogenase 6	down (1-11)	nc (13-9)	up (22-0)
U81607, gravin	down (1-11)	nc (8-7)	up (18-1)
M30269, nidogen	down (0-10)	nc (8-14)	up (15-3)
D42108, phospholipase C Epsilon	down (1-10)	nc (12-14)	up (25-0)

Abbildung 1

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
1	Fibronektin	<pre> MLRGPGPGLL LLAVQCLGTA VPSTGASKSK RQAQQMVPQO SPVAVSQSKP GCYDNGKHYQ INQQWERTYL GNALVCTCYG GSRGFNCESK PEAETCFDK YTGTNTYRVGD TYERPKDSMI WDCITCIGAGR GRISCTIANR CHEGGOSYKI GDTWRRPHET GGYMLECVCL GNGKGEWTCK PIAEKCFDHA AGTSYYVGET WEKPYQGWMW VDCTCLGEGS GRITCTSRNR CNDQDTRTSY RIGDTWSKKD NRGNLLQCIC TGNGRGEWKC ERHTSVQTTS SGSGPFTDVR AAVYQQPHP QPPPYGHCVT DSGVVYSVGQ QWLKTQGNKQ MLCTCLGNGV SCQETAVQTQ YGGNSNGEPC VLPFTYNGRT FYSCTTEGRQ DGHLMCSTTS NYEQDQKYSF CTDHTVLVQT QGGNSNGALC HFPFLYNNHN YTDCTSEGRR DNMKWCGBTQ NYADAQKFGF CPMAAHEEIC TTNEGVMYRI GDQWDKQHDM GHMMRRCVCG NGRGEWTCIA YSQLRDQCIV DDITYNVNDT FHKRHEEGHM LNCTCFGQGR GRWKCDPVHQ CQDSETGTFY QIGDSWEKYV HGVRYQCYCY GRGIGEWHCQ PLQTYPSSSG PVEVFIETP SQPNNSHPIQW NAPQPSHISK YILRWRPKNS VGRWKEATIP GHLNSYTIKG LKPGVYVEGQ LISIQQYGHQ EVTRFDFTTT STSTPVTSN VTGETTPFSP LVATSESVTE ITASSFFVSW VSASDTSVSGF RVEYELSEEQ DEPOQYLDLPS TATSVNIPDL LPGRKYIVNV YQISEDGEQS LILSTSQTAA PDAPPDPTVD QVDDTSIVVR WSRPQAPITG YRIVYSPSVE GSSTELNLPE TANSVTLSDL QPGVQYNNITI YAVEENQUEST PVVIQQETTG TPRSDTVPSB RDLOFVEVTD VKVTIMWTPP ESAVTGYRVD VIPVNLPGEH GQLPLISRNT FAEVTGLSPG VTIYFKVFAV AQQTTKLDAP TNLQFVNEDT STVLVRWTTP RAQITGYRLT VGLTRRGQPR QYNVGPVSVK SHGRESKPLT YPLRNLQPS EYTVSLVAIK GNOQESPATG VFTTLQPGSS IPPYNTEVTE TTIVITWPA PRIGFKLGVR PSQGGEAPRE VTSDDGSIVV SGGLTPGVEYV YTIQVLRDGQ ERDAPIVNKV VTPLSPPTNL HLEANPDTGV LTVSWERSTT PDITGYRITT TPTNGQQGNS LEEVVAHDQS SCTFDNLSPG LEYNVSYTV KDDKESVPIS DTIIPAVPPP TDLRFTNIGP DTMRVTWAPP PSIDLTNFLV RYSPVKNEED VAELSIISPSD NAVVLTNLLP GTEYVVSVSS VYEQHESTPL RRQRKTGLDS PTGIDFSDIT ANSFTVHWIA PRATITYRI RHHPEHFSGR PREDRVPHSR NSITILNITP GTEYVVSVIA INGREESPLI IGGQSTVSDV PRDLEVVAAT PTSLLISWDA </pre>

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		PAVTVRYRI TYGETGGNSP VQEFITVPGSK STATISGLKP GVDYTITVIA VTGRGDSPAS SKPISINYRT EIDKPSQMIV TDVQDNISIV KWLPSSSPVT GYRVTTTPKN GPGBTKTKA GDPQTEMTE GLQPTVEYYW SYAQNPSGE SQPLVQTAVT NIDRPKGCAF TDVDVDISIKI AWESPGQVS RYRVYSSPE DGIHELFPAF DGEEDETAELQ GLRPGESEYTV SVALHDDME SQPLIGTQST AIAPATDLKF TQVTPTSLSA QWTPPNVQLT GYRVRVTIPKE KTGPMEKINL APDSSSVVVS GLMVATKYEV SYVALKDILT SRPAQGVVTT LENVSPPRRA RVTDATETTI TISWRKTET ITGFQVDAVP ANGOTPIORT IKPDVRSYTI TGLQPGTDYK IYLYTLNDNA RSSPVVVIDAS TAIDAPSNLR FLATTPNSSL VSWQPPRARI TGYIIKIYKEKP GSPPREVVPR PRPGVTEATTI TGLEPGTEYT IYVIALKNNQ KSEPLIGRKK TDELPQLVTL PHPNLHGPEI LDVPSTVQKT PFVTHPGYDT GNGIQLPGTS QQPSVGQQM IFEEHGFRRT TPPTTATPIR HRPRPYPPNV GEEIQIGHIP REDDVHLYP HGPGLNPNAS TGQEALISQTT ISWAPFQDTI EYIISCHPVVG TDEEPLQFRV PGTSTSATLT GLTRGATYNI IVEALKDQQR HKVREEVVTV GNSVNEGLNQ PTDDSCFDPY TVSHYAVGDE WERMSESGFK LLCQCLGFGS GHFRCDSSRW CHDNGVNYKI GEKWDROGEN GOMMSCTLG NGKGGEFKCDP HEATCYDDGK TYHYGEQWQK EYLGAICSCT CFGGQRGWRC DNCRRPGGEP SPEGTTGQSY NOYSQRYHQR TNTNVNCPIE CFMPLDVQAD REDSR
2	Insulin-like growth factor binding protein-2	MLPRVGCPI ALPLPPPLPL LPLLLLIGA SGGGGARAE VLFRCPCTP ERLAACGPPP VAPPAAVAAV AGGARMPCAE LVREPCCGCC SVCARLEGIA CGVYTPRCGQ GLRCYPHPGS ELPLQALVMG EGTCCEKRRDA EYGASPEQYA DNGDDHSEGG LVENHVDSYM NMLGGGGSAG RKPLKSGMKE LAVFREKVTE QHRQMGKGGK HHHLGLEEKK LRPPPARTPC QQELDQVLER ISTMRLLPDER GPLEHLYSLH IPNCDKHGLY NLKQCKMSLN GORGEWCWVN PNTGKLQGA PTIRGDPECH LFYNEQQEAR GVHTORMQ

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
3	Transmembrane receptor PTK7	MGAARGSPAR PRRLLPLLSVL LIPFLLGGTQT AIVFIKQPSS QDALQGRRAL LRCEVEAAGP VHVYWLLDGA PVQDTERRFA QGSSLSSFAAV DPLQDSDGTFO CVARDVTGE EARSANASFN IKWIEAGPVV LKEPASEAEI QPQTQVKLRC HIDGHPRPTY QWFRDGTPS DGQSNHTVSS KERNLTLRPA GPEHSGLYSC CAHSAFSQAC SSQNFTLTLIA DESFARVLA PQDVVVARYE EAMFHCCQFSA OPPPSLQWLF EDETPITNRS RPFHLRRATV FANGSLLLTQ VRPNAGIYR CIGQGQRGPP IILEATLHLA EIEDMPLFEP RVFTAGSEER VTCLPPKGLP EPSVWWEHAG VRLPTHGRVY QKGHELYLAN IAESDAGVYT CHAANLAGQR RQDVNTITVAT VPSWLKKPQD SQLEEGKPGY LDCLTQATPK PTVVWYRNQM LISEDSSRFEV FKNGTLLRNS VEVYDGTWYR CMSSTPAGSI EAQAVLQVLE KLKPPTPPPQP QQCMGFDKEA TVPCSATGRE KPTIKWERAD GSSLPEWVTD NAGTLHFARV TRDDAGNYTC TASNGPQGQI RAHVQLTVAV FITFKVPEP TTYYQOHTAL LOCEAQGDPK PLIQWKGKDR ILDPTKLGPY MHIFQNGSLV IHDIYAPEDSG RYTCIAGNSC NIKHTEAPLY VVDKPVPEES EGPGSPPPYK MIQTIGLSVG AAVAYIAVL GLMFYCKKRC KAKRLQKOPF GEEPEMECLN GPLQNGQPS AEIQQEEVALT SLGSGPAATN KRHSTSDDKMH FPRSSLQPIIT TLGKSEFGEV FLAKAQGLEE GVAETLVLVK SLQSKDEQQQ LDFRRELEMF GKLNHANVVR LLGLLCREAEP HYMVLEYVDL EDLKQFLRIS KSKDEKLKSQ PLSTKQKVAL CTQVALGMEH LSNNRNFVHKD LAARNCLVSA QRQVKVSAHG LSKDVINSEY YHFRQAWVAL RWMSPEALLE GDFSTKSDVW ASGYLMWEVF THGEMPHGGQ ADDEVLLADLQ AGKARLQPQE GCPSKLLYRLM QRCWALSPKD RPSFSEIASA LGDSTDVDSKP
4	Platelet-derived growth factor receptor alpha	MGTSHPAFLV LGCLLTLGSL ILCQLSLPSI LPNENEKVVQ LNSSFSLRCF GESEVSSWQYP MSEEEESSDVE IRNEENNSGL FVTYLEVSSA SAHTGLYT YYNHTQTEEN ELEGRHIYIY VPDPDVAFVP LGMTDYLVIV EDDSAIIPC RTIDDPETPVT LHSEGVVPA SYDSSRQGFNG TFTVGPYICE ATVKGKFKQT IPFNVYALKA

Abbildung 2

Seq.IdNo	Name	Proteinsequenz
		TSELDLEMEA LKTVYKSGET IIVVTCAVENN EVVDLQNTYP GEVKGKGITM LEEIKVPSIK LIVYTLTVPEA TVKDSDGYEC AARQATREVK EMKKVTISVH EKGFIEIKPT FSQLEAVNLH EVKHFVVEVR AYPPPRISWL KNNLTLIENL TEITTDVEKI QEIRYRSKLK LIRAKEEDSG HYTIVAQNEQ AVKSYTFFELL TQVPPSSILDL VDDHHGSTGG QTVRCIAEGT PLPDIEWMIC KDIKKCNNET SWTILLANNVS NIITEIHSRD RSTVEGRVTF AKYEETI AVR CLAKNLLGAE NRELLKLVAPT LRSELTVAII SLIVLVIVII SLIVLVVIW QKPRYEIRWR VIESISP DGH EYIYVDPMQL PYDSDRWEFPR DGLVLGRVLG SGAFGKVVEG TAYGLRSQP VMKVAVKMLK PTARSSEKQA LMSELKIMTH LGPHLNIVNL LGACTKSGPI YIITEYC FYG DLVNYLHKNR DSFLSHHPEK PKKELDIFGL NPADESTRSY VILSFENNGD YMMDMKQADTT QYVEMLERKE VSKYSDIQRS LYDRPASYKK KSMILDSEVKN LLSDDNSEGII TL DLLLSFTY QVARGMEFLA SKNCVHRDLA ARNVLLAQGK IVKICDFGLA RDIMHDNSYV SKGSTFLPVK WMAPESI FDN LYTTLSDVWS YGILLWEIFS LGGT PYPGMV VDSTFYNKIK SGYRMWAKPDH ATSEVYETMV KCWNSEPEK R PSFYHLSEIV ENLLPGQYKK SYEKIHLDFL KSDHPAVARMVDSNDAYIG VTYKNEEIDL KDWEGLLDEQ RLSADSGYII PLPDIDFVPE EEDLGKRNRH SSQTSEESAI ETGSSSSSTFI KREDETIEDI DMMDDIGIDS SDLVEDSFL
5	Collagen type XVIII alpha 1	GEYGADGIP FPGLPGREGI AGPQGPKGDR GSRGEKGDKD PG RDGLGQPGPLP GPRGPPGPVV YVSEQDGSVL SVPGPEGRRG FAGFPGPAGP KGNLGSKGEL GSPGPKGEGK EPGSIFSPDG GALGPAQGA KGEPGFRGPP GLYGRGPYKG EIGFPGRPGR PGMMGLKGEK GEPGDASLGF GMRGMPGPPG PPGPPGPPT PVYDSNVFAE SSRPGP GPGLP GNQGPPGPKG PKGEVGPPGP PGQFPFDLQ KEAEMKGEGK DRGDAGQKGE RGEPGGGFF GSSLPGAPGA PGPRGYPGIP GPKGESIRGQ PGPPGPQGPP GIGYEGRQGP PGPPGPQGP SFPGPQRQT SVPGPPGPVG PPGPPGTGMGA SSGQVRLWAT RQAMLGQVHE VPEGWLIFVA EQEELYVRVQ NGFRKVQLEA RTPLPRGTDN EVAALQPPVV QLHDSNPYPR REHPPHTARP WRADDILASP PGLPEPPQYP GGPBHSSSYVH CGPAPRPTSPP AHSHRDFQPV LHIVVALNSPL SGCMRMRGIRGA DFOCFQQARA VGLAGTFRAF LSSRLQDLYS

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
6	Subtilisin-like protein (PACE4)	IVERRADRAAV PIVNLKDELL FPSWEALFSG SEGPLKPGAR IPSFDGKDVL RHPTWPQKSV WHGSDPNNGRR LTESYCETWR TEAPSATGQA SSLIIGGRLLG QSAASCHHAY IVLCIENSFM TASK
7	Laminin M chain (Merosin)	MPPRAPPAGP PRPPPRAAAA TDTAAAGAGGA GGAGGGGGP FRPLAPRPRW WLLLALPAA CSAPPFRPVY TNHWAVQVLG GPAEADRVAA AHGYLNLGQI GNLEDYHHFY HSKTFKRSTL SSRGPHFLR MDPPQVKWLQQ QEVKRRVKRQ VRSDPQALYF NDPIWSNMWY LHCGDKNSRC RSEMVNQAAW KRGYTGKNNV VTILDDGIER NHPDLAPNYD SYASYDVNGN DYDPSPRYDA SNENKHGTRC AGEVAASANN SYCIVGIAYN AKIGGIRMLD GDVTDVVEAK SLGIRPNYID IYSASWGPDD DGKTVDPGGR LAKQAFEGI KKGRQGLGSI FWASGNNGR EGDYCSCDGY TNSIYTISVS SATENGYKPW YLEECASTLA TYSSGAFYE RKIVTTDLRQ RCTDGHTGTS VSAPMVAGII ALALEANSQL TWRDVQHLLV KTSRPAHLKA SDWKVNGAGH KVSHFYFGGL VDAEALVVEA KRWTAVPSQH MCVAASDKRP RSIPLYQVLR TTALTSAACE HSDQRVVYLE HVVVRTSISH PRRGDLQIYL VSPSGTSQL LAKRLLDSN EGFTINWEFMT VHCWGEKAEG QWITLEIQDLP SQVRNPKEKG KLIKEWSLILY GTAEPHYHTF SAHQSRSRML ELSAPELEPP KAALSPSQVE VPEDEEDYTA QSTPGSANIL QTSVCHPECG DKGCDGPNAQ QCLNVCVFSL GSVKTSRKCV SVCPLGYFGD TAARRCRRCH KGCETCSSRA ATQCLSCRGG FYHHQEMNTC VTLCPAGFYA DESQKNCLKC HPSCKKCVDE PEKCTVCKEG FSLARGSCIP DCEPGTYFDS ELIRCGECHH TCGTCVGPGR EECIHCACKNF HFHDWKCVPA CGEGFYPEEM PGLPHKVCRRT CDENCLSCAG SSRNCSRCKT GFTQLGTSCI TNHTCSNADE TFCEMVKSNR LCERKLFIQF CCRTCLLAG

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		EECYYDENVA RRNLNSLNIRG KYIGGGVCIN CTQNTAGINC ETCTDGFFRP KGVSPPNYPRP CQPCCHCDPTG SLNEVCVKDE KHARRGLAPG SCHCKTGFCC VSCDRCARGY TGYPDCKACN CSGLGSKNED PCFGPCICKE NVEGGDCSRC KSGFFNLQED NWKGCDCECF C SGVSNCQSS YWTYGIQDM SGWYLTDLPG RIRVAPQQDD LDSPQQISIS NAEARQALPH SYWWSAPAPY LGNKLPAVGG QLTFITSYDL EEEEEEDETRY LQLMILLEGNN DLISISTAQDE VYLHPSEEHT NVLLIKEESF TINGTHFPVVR RKEFMTVLAN LKRVLLQITY SFGMDAIFRL SSVNLESAVS YPTDGSIAAA VEVCGCPPGY TGSSCESCWP RHRRVNGTIF GGICEPCQCF GHAESCDDVT GECLNCKDHT GGPYCDKCLP GFYGEPTKGT SEDCOPCACP LNIPSNNSFP TCHLDRSLGL ICDGCPVGYT GPRCERCAEG YFGQPSVPGG SCQPQCNDN LDFSIPGSCD SLGSCLICK PGTTGRYCEL CADGYFGDAV DAKNCQPCRNC NAGGSFSEVC HSQTGQCECR ANVQGQRCDK CKAGTFLQOS ARGCVPCNCN SFGSKSFDCE ESGQCWCQPG VTGKKCDRCA HGYFNFQEGG CTACECSHLG NNCDPKTGRC ICPPNNTIGEK CSKCAPNTWG HSITTGCKAC NCSTVGSLDF QCNVNTGQCN CHPKFSGAKC TECSRGHWNY PRCLNLCDCFL PGTDATTCDSD ETKKCSCSDQ TGQCTKVN V EGIIHCDRCP GKFGLDAKNP LGCSSCYCFG TTTCQCEAKG LIRTWVTLKA EQTILPLVDE ALQHTTKGKI VFQHPEIVAH MDLMREDLHL EPFYWKLPHQ FEGKKLMLAYG GKLYKAIYFE AREETGFSTY NPQVIRGGT PTHARIIVRH MAAPLIGQLT RHEIEMTEKE WKYYGDDPERV HRTVTRDEFL DILYDIHYIL IKATYGNFMR QRRISEISME VAEQGRGTTM TPADLIEKC DCPLGYSGLS CEACLPGFYR LRSQPGGRTTP GPTLGTCVPC QCNGHSSLCD PETSIQNCQ HHAGDFCER CALGYYIVK GLPNDCCQQCA CPLISSNNF SPSCVAEGLD DYRCTACPRG YEGQYCYERCA PGYTGSTPGNP GGSCQECECD PYGSLPVPCD PVTGFCTCRP GATGRKCDGC KWHWAREGWV CVFCGDECTG LLGDLARLE QMVMSINLTG PLPAPYKMLY GLENMTOELK HLLSPQRAPE RLIOLAEGNL NTLVTEMNEL LTRATKVTAD GEQTGQDAER TNTRAKSLGE FIKELARDAE AVNEKAIKLN ETLGTRDEAF ERNLEGLQKE IDQMIKELRR KNLETQREIA EDELVAEEAL LKVKVKLFGC SRGENEMEK DLREKLADYK NKVDDAWDLL REATDKIREA NRLFAVNQKN MTALEKKKEA VESGKRQIEN TLKEGNLDL DAEIN SIIDYVEDIQ TKLPPMSEEL NDKIDDLSQE IKDRKLAEBKV

Abbildung 2

9 / 15

Seq-IDNO	Name	Proteinsequenz
		SQAESAAQL NDSSAVLDGI LDEAKNISFN ATAFAFKAYSN IKDYIDEAEK VAKEAKDLAH EATKLATGPR GLLKEDAKGC LQKSFRILNE AKKLANDVKE NEDHNLKLT RIENADARNG DLLRTLNDTL GKLSAIPNDT AAKLQAVKDK ARQANDTAKD VLAQITELHQ NLDGLKKNNY KLADSVAKTN AVVKDPSKNK LIADADATVK NLEQEADRLL DKLKPKELE DNLLKKNISEI KELLNQARKQ ANSIKVSVSS GGDCIRTYKP EIKKGSYNNI VVNVKTAVAL NLLFYLGSAK FIDFLIAEMR KGKVSEFLWDV GSGVGRVEYP DLTIIDDSYWI RIVASRTGRN GTISVRALDG PKASIVPSTH HSTSPPGYTI LDVDANAMLF VGGLTGKLKK ADAVRVITFT GCMGETTYFDNN KPJIGLWNFRE KEGDCKGCTV SPOVEDSEGT ATRDLDLFMS VELTDGH1KV SYDLSGSMAS VVSNQNHNDG KWKSFTLSRI QKQANISIVD IDTNQEEENIA TSSSGNNFGL DLKADDKIYF GGLPTLRNLS MKARPEVNLLK KYSGCLKDIE ISRTPYNLLS SPDYVGVTKG CSLENVYTTS FPKPGFVELS PVPIDVGTEI NLSFSTKNE GILLLGSGGT PAPPRKRRQ TGQAYYVILL NRGRLEVHLS TGARTMRK1V IRPEPNLFHD GREHSVHVER TRGIFTVQVD ENRRYMQLT VEQPIEVKKL FVGGAPPEFQ PSPLRN1PPF EGGIWNLYIN SVPMDFARPV SFKNADIGRC AHQKLREDD GAAPAEIVIQ PEPVPTPAFP TPTPVLTGHP CAAESEPAALL IGSKQFGLSR NSHIAIAFDD TKVKNRLTIE LEVRTEAESG LLFYMA1NH ADFAVVQLRN GLPYFSYDLG SGDTHTM1PT KINDGQWHKI KIMRSKQEGI LYVDGASNRT ISPKKADILD VVGMLYVGGL PINYTRRIG PTYTSIDGCY RNLMHMAEAPA DLEQPTSSFH VGTCFANAQR GTYFDGTGFA KAVGGFKVGL DLLVEFFAT TTTTGVLIGI SSQKMDGMGI EMIDEKLMFH VDNGAGRFTA VYDAGVPGHL CDGQWHKVTA NKIKHRIELT VDGNQVEAQ NPASTSADI NDPVFVGGFP DDIJKQFFGLTT SIPFRGCITRS LKLTKGTTASH WRLILPRPWN
8	Elastin	MAGLTAAAPR PGVLLLSSI LHPSRPGGVV GAIPGGVPGG VFYPPGAGLGA LGGGALGPCC KPLKPVPGGL AGAGLGAGLG AFPAVTFPGA LVPGGVADAAYKAAKAGA GLGGVPGVGG LGVSAGAVVP QPGAGVKPGK VPGVGLPGVY PGGVLPGARF PGVGLPGVP TGAGVLPKAP GVGGAFAGLIP GVGPFGGPQP GVPLGYPPIKA PKLPGGGYGLP YTTGKLPHYGY GRGGVAGAAG KAGYPTGTGV GPQAAAAAAA KAAAKFGAGA AGVLPGVGGA

Abbildung 2

10 / 15

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		GVPGVPGAI P GIGGIAGVGT PAAAAAAA AKAAYGAAA GLVPGGGFRC PGVVGVPGAG VPGVGVPGAG IPVVPGAGIP GAAVPGVNSP EAIAKAAAKA AKYGARPVG VGGIPTYGVG AGGFPGFGV VGGIPGVAGV PSVGGVPGVC GVPGVGISPE AQAAAAKAA KYGVGTPAAA AAAAKAAQ FALLNLAGLV PGVGVAPGVG VAPGVGVAPG VGLAPGVVA PGVGVAPGVG VAPGIGGGV AAAAKSAAKV AAAQLRAAA GLGAGIPGLG VGVGVPGLVV GAGVPGLVGV AGVPGFGAVP GALAAAKAAK YGAAVPGVILG GLGALGCVGI PGGVVGAGPA AAAAAAKAA KAAQFGLVGA AGLGLGVGG LGVPGVGG GLIPPAAAKA AKYGAAGLGG VLGGAGQFPL GGVAARPGFG LSPIFPGGAC LGIACGRKRK
9	Alpha-2 type collagen	IV MGRDQRRAVAG PALRRWLLIG TVTVGFLAQ S VLAGVKFKDV PCGGRDCSGG CQCYPEKGGR QGPGPVGPQC YNGPPGQIQLQGF PGLQGRKGDK GERGAPGVTC PKGDVGARGV SGFPGADGIP GHPGQQGPRG RPQYDGCGNT QGDSGPQGPP GSEGFTQGPP PQGPKGQKGE PYALPKKEERD RYRGEPEGPV LVGFQGPGR PGHVQGMGPV GAPGRGPQPG PPGPKGQQGN RGLGFYGVKG EKGDVQQGP NGIPSDTLHP IIAPTGVTFH PDQYKGKEKGS EGEPGIRGIS LKGEEGIMGF PGLRGYPGLS GEKGSPQKG SRGLDGYQGP DGPGRPKGEA GDPGPGLPA YSPHPSLAKG ARGDPGFPGA QGEPEQSQGP GDPGLPQPPG LSIGDGDQRR GLPGEQMGPKG FIGDPGIPAL YGGPPGPDK RGPPGPQGLP GP GPDPGFLF GLKGAKGRAG FPGLPGSPGA RGPKGWGDA GECRCTEGDE AIKGLPGLPG PKGFAGINGE PGRKGDKGDP QHHLGPFGP LKGVPGNIGA PGPKGAKGDS RTITTKGERG QPGVGVPGM KGDDGSPGRD GLDGFPGLPG PPGDGKIKGPP GDPGPYGPQG TKGTPGEMGP PGLGLPGLKG QRGFPGDAGL PGPPGFLGPP GPAGTPQCID CDTDVKRAVG GDRQEAIQPG CIAGPKGLPG LPGPPTGAA KGRLRGIPFA GADGGPPGRG LPGDAGREGF PGPPGFIGPR GSKGAVGLPG PDGSPGPIGL PGPDGPQGER GLPGEVVLGAQ PGPRGDAGVP QGPGLKGLPG DRGPPGFRGS QGPGLPQPSG QPGLYGPQGL HGFPGAPGQE GPLGLPQIPIG REGLPQDRGD PGDTGAPGPV GMKGLSGDRG DAGFTGEQGH PGSPGFKGID GMPGTPGLKG DRGSPGMDFG QGMPGLKGRP GFPGSKGEAG FFCIPGLKGL AGEPGFKGSR GDPGPQGPDP

Abbildung 2

11 / 15

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		VILPGMMDIK GEKGDEGPMG LKGYLGAKGI QGMPGIPGLS GIPGLPGRPG HIKGVKDIG VPGIPGLPGF PGVAGPPGIT GFPGFIGSRG DKGAPGRAGL YGEIGATGDF GDIGDTINLP GRPGLKGGER TTGIPGLKGF FGEKGTEDI GFPGIGTVG VQGPPGLKGQ TGFPGLTGPP GSQGELGRIG LPGGKDDGW PGAPGLPGFP GLRGIRGLHG LPGTKGFPGS PGSDLHGDPG FPGPPGERGD PGEANTLPGP VGVPGQKGDQ GAPGERGPPG SPGLQGFPGI TPPSNISGAP GDKGAPGIFG LKGYRGPPGP PGSAALPGSK GDTGNPGAPG TPGTKGWAGD SGDQGRPGVF GLPGEKGPRG EQQFMGNTGP TGAVGDRGPK GPKGDPGFPG APGTVGAPG AGIPQKIAIQ PGTIVGPQGRR GPPGAPEGEIG PQGPPGEPEGF RGAPGKAGPQ GRGGVSAVPG FRGDEGPIGH QGPPIQEGAP GRPGSPGLPG MPGRSSVSIGY LLWKHQSQTQ EPMCPVGMNK LWSGYSLLYF EGQEKAHNQD LGLAGSCLAR FSTMPFLYCN PGDVCYASR NDKSYWLSTT APLPMMVAE DEIKPYISRC SVCEAAPAII AVHSQDVSI P HCPAGWRSLW IGYSLMIHTA AGDEGGGQSL VSPGSCLEDWF RATPFIECNG GRRGTCHYYAN KYSFWLTTIP EQSFQGSPSA DTLKAGLIRT HISRCQVCMK NL
10	P27	MEASALTSSA VTSVAKVVRV ASGSAVVLPL ARIATVIGG VVAMAAPMV LSAMGFTAAAG IASSSIAAKM MSAAAITANGG GVASGSLVGT LQSLGATGLS GLTKFILGSI GSAAIAVIAR FY
11	Reticulocalbin	MARGGRGRRL GLALGLLIAL VLAPRVLRAK PTVRKERRVVR PDSELGERPP EDNQSFFQYDH EARLGKEDSK TFDQLTPDES KERLGKIVDR IDNDGDFVT TEELKTWKR VQKRYIFDNV AKVWKDYDRD KDDKISWEY KQATYGYYLG NPAEFHDSSD HHTFKMLPR DERRFKAADL NGDLTATREE FTAFLHPEEF EHMKETIVLE TLEDIDKNGD GFVDQDDEYIA DMFSHEEENGEP EPDWVLSERE QFNEFRLNK DGKLKDKEIR HWILPQDYDH AQMEARHLVY ESDKNNKDEKL TKEELLENWN MFVGSQATNY GEDLTKNHDE L
12	Aldehyde dehydrogenase 6	MATANGAVEN GQPDGKPPAL PRPIRNLEVK FTKIFINNEW HESKSGKKFA TCNPSTREQI CEVEEGDKPD VDRAVEAAQV AFQRGSSPWRR LDALSRGRLL HQLADLYVERD RATLAALETM DTGKPFHAF FIDLEGCIIRT

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		LRYFAGWADK IQGKTIPTDD NIVVCFTTRHEP IGVCGAATPW NFFPLMLVWK LAPALCCGNT MVLKPAEQTP LTALYLGSLLI KEAGFPFGVY NIVPGFGPTV GAAISSHPQI NKLAFITGSTE VGKLVKEAAS RSNLKRVTLE LGGRNRPICVC ADADLDAVE CAHQGVFFNQ GQCCTAASRV FVEEQVYSEF VRRSVEYAKK R.PVGDPFDVK TEQGPQIDQK QFDKILLIE SGKKKEGAKLE CGGSAMEDKG LFIKPTVFSE VTTDNMRAIKE EIFGPVQPILL KPKSIEEVIK RANSTDYGLT AAVFTKNLDK ALKLASALES GTWWINCYNA LYAQAPFGGF KMSGNGRELG EYALAEYTEV KTVTILKGDK NP
13	Gravin	MGAGSSSTEQR SPEQPPEGSS TPAEPEPSGG GPSAEAAAPDT TADPAIAASD PATKLUQNG QLSTINGVAE QDELSLQEGD LNGQKGALNG QGALNSQEEE EVIVTEVGQR DSEDVSERDS DKEMATKSAY VHDITDDQEE ENRNIEQIPS SESNLIELTQ PTESQANDIG FKVKVFKVFGF KFTVKKDKTE KPDTYQLLTV RKDEGEAAG AGDHQDPSLG AGEAASKESE PKQSTEKPEE TLKREQSHAE ISPPAESGQA VEECKEEGEE KQEKEPSKSA ESPPTSPTSE TGSTFKKFPT QGWAGWRKKT SFRKPKEDEV EASEKKKEQE PEKVDTEEDG KAEVASEKLT ASEQQAHPQEP AESAHEPRLS AEYKVELPS EQVSGSQGP SEEKPAPLAT EVFDEKIEVH QEEVVAEVHV STVEERTEEQ KTEVEETAGS VPAAELVGMD AEPQEAEPAK ELVJKLKETCV SGEDPTQGAD LSPDEKVLSK PPEGVVSEVE MLISSQERMKV QGSPLKKLFT STGLKKLSGK KQKGKRGGGD EESGEHTQVP ADSPDQSQQ KGEASSSPE EPEEITCLEK GLAEVQODGE AEEGATSDGE KKREGVTPWA SFKKMVTPKK RVRRPSESDK EDELDKVSA TLSSTESTAS EMOQEEMKGSV EEPKPEEPEKRV KVTTSVSWEA LICVGSSKKR ARRSSSSDEE GGPKAMGGDH QKADEAGKDK ETGTDGILAG SQEHDPGQGS SSPEQAGSPT EGEGVSTWES FKRLVTPRK SKSKLEEKSE DSIAKGVEH STDTEPGKE ESWVSLKKFI PGRKKRPDG KQEQAPVEDA GPTGANEDDS DVPAVVPLSE YDAVERERME AQQAQKGAEQ PEQKAATEVS KELSESQVHM MAAAVADGTR AATTIEERSP SWISASVTEP LEQVEAAAL LTEEVLLEREV IAEEEPPTVT EPLPNREAR GDTVVSSEAL TPEAVTAET AGPLGSEEGT EASAAEETTE MVSAVSQLTD SPDTTTEATP VQEVEGGVDP IEEQERRTQE VLQAVAAEKVK

Abbildung 2

13 / 15

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		EESQLPGTGG PEDVLQPVQR AEAERPEEQA EASGLKETD VVILKDAQEKA KTEPFTQGKV VGGTTPESFE KAPQVTESIE SSELVTCQA ETLAGVKSQE MVMEQAIAPPD SVETPTDSET DGSTPVADFD APPGTQKDEI VEIHEENEVA SGTOSGGTEA EAVPAQKERP PAPSSFFVQE ETKEQSKMED TLEHTDKEVs VETVSIISKT EGTQEADQYA DEKTKDVPFF EGLEGSIDTG ITVSREKVTE VALKGEGTEE AECKDDALE LQSHAKSPPS PVEREMVVQV EREKTEAEPt HVNEEKLEHE TAVTVSEEVs KQLLQTVNVP IIDGAKEVSS LEGSPPPCLG QEEAVCTKIQ VOSSEASFTL TAAAEEEKVL GETANILETG ETILEPAGAHl VLEEKSEKN EDFAAHPGED AVPTGPDCQA KSTPVIISAT TKKGLISSDLE GEKTTSLWKW SDEVDEQVAC QEVKVVAIE DLLEPENGILE LETKSSKLVQ NIIQTAVDQF VRTEETATEM LTSELQTQAH VIKADSQDAG QETEKEGEEP QASAQDETPI TSAKEESEST AVGQAHSDIS KDMSEASEKT MTVEVGSTV NDQQLEEVVL PSEEEGGAG TKSVPEDDGH ALLAERIEKS LVEPKEDKEKG DDVDDPENQN SALADTDASG GLTKESPDTN GPKQKEKEDA QEVELQEGKV HSESDKAITP QAQEELLOQQE RESAKSELTE S
14	Nidogen	MLASSSRIRA AWTRALLLPL LIAGPYGCLS RQELEFPFGPG QGDLELEDGD DFVSPAELS GALRFYDRSD IDAVYVTTNG IIATSEPPAK ESHPGLFPPT FGAVAPFLAD LDTTDGLGV YYREDLSPSI TQRAECVHR GFPEISFQPS SAVVVTWESV APYQGPRSRDP DQKGKRNTFQ AVLASSDSSS YAIFLYPEDG LQFHTTFSSKK ENNQVPAYVA FSQGGSVGLW KSMGAYNIFA NDRESIENLA KSSNSGQQGV WVFFBIGSPAT TNGVVPADVI LGTEDGAEYD DEDEDYDLAT TRIGLEDYGT TPFSYKALRR GGADTYSVPS VLSPRRAATE RPLGPPTERT RSFOLAVETF HQQHPQVIDV DEVBEITGVVF SYNTDSRQTC ANMRHQCSVH AECRDYATGF CCSGVAGYTG NGRQCTVAEGS PQRVNGKVKG RIFVGSSQVP IWFENTDLHS YVVMNHGRSY TAISTIPETV GYSLLPLAPV GGIIGWMFAV EQDGFKNKGSF ITGGEFTRQA EVTFVGHPGN LVIKQRFSGI DEHGLHTDT ELEGRVPQIP

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		FGSSVHIEPY TELYHYSITSV ITSSSTREYT VTEPERDGAS PSRIIYTQWR QTITFQECVH DDSRPALPST QQLSVDSVFV LYNQEEKILR YAFNSNIGPV REGSPDALQN PCYIGTHGCD TNAACRGPR TQFTCECSIG FRGDGRTCYD IDECSEQPSV CGSHTICNNH PGTFRCECVE GYQFSDEGTC VAVVDQRPIN YCETGLHNCD IPQRQAQCIYT GGSSYTCSCSCL PGFSGDGQAC QDVDECQPSR CHPDAFCYNT PGSFTCQCKP GYQGDGFRCV PGEVEBKTRCQ HEREHILGAA GATDPQRPIP PGLFLVPEBCDA HGHAYAPTQCH GSTGYCWCVD RDGREVEGTR TRPGMVTPPCL STVAPPPIHOG PAVPTAVIPL PPGTHLJLFAQ TGKIERLPLE GNTMRKTPEAK AFLHVPAKVI IGLAEDCVDK MYYWTIDITEP SIGRASLHGG EPTTIIQRDL GSSEGIAVDH LGRNIIFTWDS NLDRIEVALK DGTQRRVLFE TDLYNPRGIV TDSVRGNLYW TDWNRDNPKI ETSYMDGTNR RILYQDDLGL PNGLHFDAFS SQLCWVDAGT NRAECLNPSQ PSRRKALEGL QYPFAVTSYG KNLYFTDWKM NSVVALLDLAI SKETDAFQPH KQTRLYGITT ALSQCQPQGHN YCSVNNNGCT HLCLATPGSR TCRCPDNTLG VDCIERK
15	Phospholipase Epsilon	C MPSEKKISSA NDCISFMQAG CELKKVRPNS RIYNRFITLD TDIQALRWEP SKKDLEKAKL DISAIKEIRL GKNTETFTNN GLADQICEDC AFSILHGENY ESLDLVANSA DVANIWVSL RYLVSRSKQP LDFFMEGNQNT PRFMWLKTVF EAADVDDNGI MLEDTSVELI KQLNPTLKEA KIRLKFKKEIQ KSKEKLITTRV TEEEFCEAFC ELCTRPEVYF LLVQISKNKE YLDANDLMLF LEAEQGUTHI TEDIICLDIIR RYELSEEGRO KGFLAIDGFT QYLLSSECDI FDPEQKVKVAQ DMTQPLSHYY INASHNTYLI EDQFRGPADI NGYIRALKMG CRSVELDVS GSDNEPILLCN RNNMTTHVSF RSVIEVINKF AFVASEYPLI LCLGNHCSLP QQKVMAQQMK KVFGNKLYTE APLPSESYLP SPEKIKMII VRGKKLPSDP DVLEGETYDE DEAQMSRRM SVDYNGEQKQ IRLCRELSDL VSICKSVQYR DFELSMKSON YWEMCSFSET EASR.IANEYP EDFVNYYNKKF LSRIYPSAMR IDSSNLNPQD FWNCGCQIVA MNFQTTPGPM DIHTGWMFLQN GGCGYYLPRS IMRDEVSYFS ANTKGILLPGV SPALAHIKII SGQNFPKPKG ACAKGDVIDP YVCIEIHGIP ADCSEQRKTQ VQQNSDNPIF DETFEFQVNLL PELAMIRFVV LDDDYIGDEF IGGYTIFFEC LQPGYRHVPL RSFVGDIIMEH VTFVYHIAIT NRSGGGKAQK R.SLSVSRMGK

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		VREYTMRLNI GLKTIDDFK IAVHPLREAL DMRENMQNAI VSIKELCGLP PIASLKQCLL TLSSRLITSD NTPSVSLVYMK DSFPYPLEPLG AIPDVQKKML TAYDLMQES RFLIEMADTV QEKIVOCOKA GMFEEHEELHN LGAKEGLKGR KLNKATESFA WNTIVLKQGQ DLLXNAKNEA IENMKQIQLA CLSCGLSKAP SSSAEAKSKR SLEAIEEKES SEENGKL

US 0996140302P1



Creation date: 25-03-2003
Indexing Officer: YGEZAHEGN - YONATHAN GEZAHEGN
Team: CENTRALSCANPRINT
Dossier: 09961403

Legal Date: 29-01-2002

No.	Doccoode	Number of pages
1	SEQLIST	59
2	CRFS	2
3	PEFR	5
4	NDRW	1
5	DRW	30
6	OATH	4

Total number of pages: 101

Remarks:

Order of re-scan issued on